

KARBADIA

Instruction d'utilisation – Français

Veillez lire attentivement ce mode d'emploi avant l'utilisation du test

UTILISATION PRÉVUE

KarbaDia est un test immunochromatographique rapide destiné à la détection qualitative des carbapénémases de type KPC, NDM, IMP, VIM et OXA-48 dans les colonies bactériennes. Le test est réservé à un usage professionnel et peut aider au diagnostic des souches résistantes aux carbapénèmes de type KPC, NDM, IMP, VIM et OXA-48. Le test doit être utilisé en conjonction avec d'autres procédures de diagnostic, telles que l'analyse génétique, l'antibiogramme et d'autres analyses microbiennes.

RÉSUMÉ

Les Entérobactéries résistants aux carbapénèmes (CRE) sont devenues un problème mondial de santé publique en raison de leur résistance aux antibiotiques à large spectre, et les options thérapeutiques pour les patients sont très limitées. La carbapénémase désigne un type d'enzyme β -lactamase qui hydrolyse de manière significative l'imipénème ou le méropénem et par la structure moléculaire d'Ambler. La classe B comprend les métallo- β -lactamases (MBL), y compris les carbapénémases telles que IMP, VIM et NDM, que l'on trouve principalement dans les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacteriaceae*. Les classes A et D sont des sérinasés. La classe A, comme la carbapénémase de type KPC, a été détectée principalement dans les bactéries entérobactéries, et la classe D, comme la carbapénémase de type OXA, a été fréquemment détectée dans les acinetobactéries. Les KPC sont devenues l'un des agents pathogènes contemporains les plus importants. Les infections dues aux KPC sont associées à des échecs thérapeutiques importants et à des taux de mortalité d'au moins 50 %. La mise au point de produits de diagnostic rapide des carbapénémases revêt une grande importance pour le typage précoce des souches résistantes aux médicaments, l'orientation des médicaments et l'amélioration des normes médicales et sanitaires.

PRINCIPE DE DÉTECTION

KarbaDia est un test immunochromatographique en sandwich. Le test comporte 5 lignes de test pré-enduites (K N I V O) sur une membrane de nitrocellulose et une ligne de contrôle (C) par test. Si une carbapénémase de type KPC, NDM, IMP, VIM ou OXA-48 est présente dans l'échantillon, elle se lie aux anticorps anti-KPC, anti-NDM, anti-IMP, anti-VIM ou anti-OXA-48 conjugués à l'or, respectivement, pré-séchés sur un tampon conjugué. Le complexe anticorps-antigène conjugué à l'or se déplace vers le haut de la membrane par action capillaire où il réagit avec les lignes de

test. Les anticorps monoclonaux anti-KPC, anti-NDM, anti-IMP, anti-VIM ou anti-OXA-48 immobilisés sur les lignes de test capturent le complexe anticorps-antigène conjugué à l'or et forment une (des) ligne(s) rouge(s). Le complexe de nanoparticules continue à se déplacer à travers la membrane où des anticorps anti-souris immobilisés (ligne de contrôle) se lient au complexe anticorps-antigène conjugué à l'or et forment une ligne de contrôle rouge. Les résultats positifs forment une ou plusieurs lignes rouges dans la zone de test (K/N/I/V/O). Les résultats négatifs ne forment qu'une ligne de contrôle (ligne C). La ligne de contrôle (ligne C) est un contrôle de qualité interne qui sert à (1) vérifier qu'un volume suffisant est ajouté, (2) que le flux de liquide est correct et (3) un contrôle interne pour les réactifs. La ligne de contrôle doit toujours apparaître.

COMPOSANTS DU KIT

Composants	Quantité par kit
Carbapenem-resistant K.N.I.V.O duo test	25
Solution de traitement des échantillons	10.0 mL
Tubes compte-gouttes pour échantillons	25
Instruction d'utilisation	1

Note: Ne pas utiliser les composants d'un autre kit

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Minuteur
2. Boucle d'inoculation (5 μ l)
3. Facultatif : Pipettes et embouts stériles & Tubes stériles (1.5 ml)

STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION

1. Stocker à 2-30°C pendant 24 mois, dans un endroit sec et frais.
2. Le test rapide doit être utilisé dans l'heure qui suit l'ouverture du sachet en aluminium. La solution de traitement de l'échantillon doit être conservée à 2-8°C après ouverture.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. **Type d'échantillon :** Colonies bactériennes fraîchement cultivées
2. **Milieux de culture validés :** Gélose Luria Broth (LB), Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton agar (MH), Columbia agar + 5 % de sang de cheval, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, CHROMagar™ mSuperCARBATM, TSA + 5 % de sang de mouton, Mac Conkey, Hardy CHROM™ CRE agar.
3. Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon les méthodes microbiologiques standard.
4. Éviter toute contamination lors du prélèvement, du transport et de la conservation des échantillons.

PROCÉDURE DE TEST

Amener le kit et les échantillons de colonies bactériennes à la température ambiante (15-30°C). Ouvrir l'emballage et retirer la cassette de test. Identifier clairement le test et l'échantillon sur les cassettes de test.

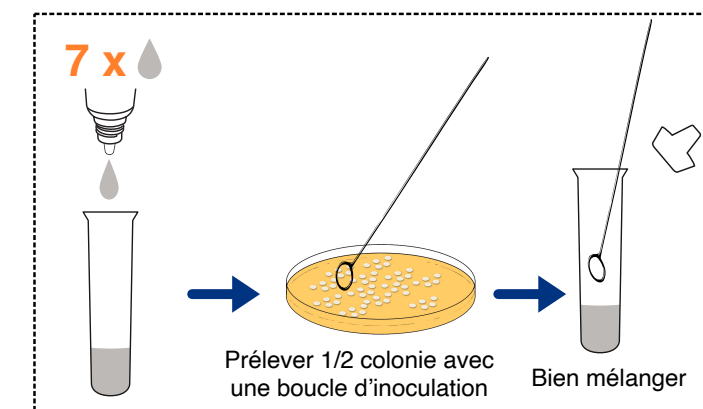
1. Prétraitement de l'échantillon

- Ajouter 7 gouttes (200 μ l) de solution de traitement des échantillons dans un tube compte-gouttes pour échantillons ou dans un tube de micro-centrifugeuse stérile jetable (non fourni).

- Prélever la moitié d'une colonie pure sur une plaque de gélose à l'aide d'une anse et la remettre en suspension dans le tube contenant la solution de traitement de l'échantillon.

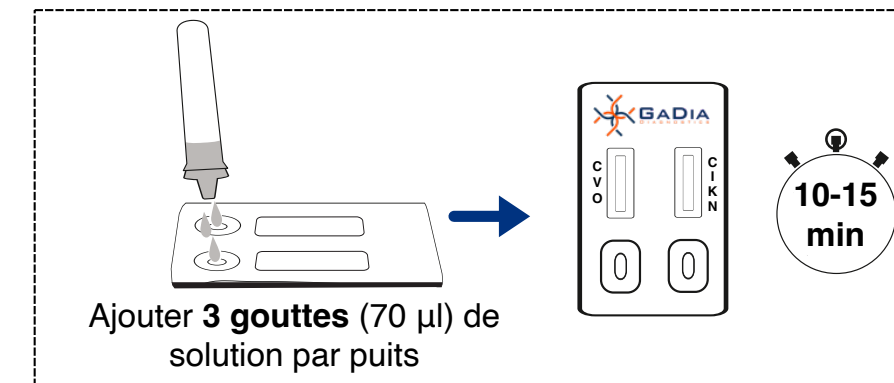
- Bien mélanger.

Colonies muqueuses : Utiliser 10 gouttes de la solution de traitement, prélever la moitié d'une colonie bactérienne et la remettre en suspension dans la solution, mélanger pendant 3 minutes à l'aide d'un vortex et incubé 10 minutes à température ambiante avant d'effectuer le test.



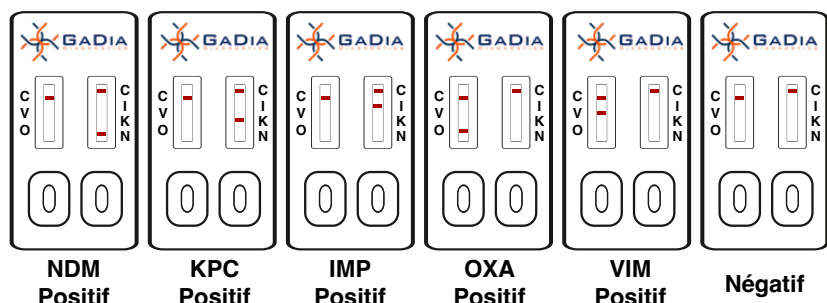
1. Détection

- Retirer le dispositif de test de la pochette en aluminium et le placer sur une paille horizontale propre.
- Ajouter **3 gouttes** (70 μ l) de mélange d'échantillons dans chaque puits du dispositif de test.
- Attendre **10 à 15 minutes** et lire le résultat. Ne pas déplacer le test pendant l'incubation. Ne pas interpréter le résultat **après 20 minutes**.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- + La présence d'une ou de plusieurs lignes rouges dans la zone de test, quelle que soit l'intensité de la ligne de test, indique un résultat positif pour le type de carbapénémase correspondant (K N I O V).
- Une seule ligne de contrôle (C) indique un résultat négatif.
- Si la ligne de contrôle (C) n'apparaît pas, le résultat n'est pas valable et le test doit être répété.
 1. Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'autres organismes producteurs de carbapénémase.
 2. Un test positif ou négatif n'exclut pas la présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.
 3. L'intensité de la couleur des lignes de test ne peut pas être utilisée pour déterminer la teneur totale en carbapénémase (qualitatif uniquement).



CONTÔLE QUALITÉ

Un contrôle qualité interne est inclus dans le test. Lorsque la ligne de contrôle se développe, cela confirme que le volume de l'échantillon était suffisant et que la procédure était correcte. Des souches de référence peuvent être utilisées comme contrôle positif externe pour les tests. Si nécessaire, contacter le fabricant pour plus d'informations.

LIMITES DU TEST

- Le kit est uniquement utilisé pour tester des souches cultivées. Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été établies pour les échantillons de souches non bactériennes. La présence ou l'absence de carbapénémase est liée aux bactéries et non aux patients.
- Ce test est qualitatif et ne donne pas de résultat quantitatif.
- Les résultats de ce test doivent être utilisés comme une aide à l'identification rapide des bactéries résistantes aux antibiotiques carbapénèmes. Les résultats doivent être confirmés par des procédures de diagnostic alternatives ou complémentaires. La prise en charge clinique des patients doit être envisagée de manière globale en tenant compte de leurs symptômes, de leurs antécédents médicaux, des autres tests de laboratoire et des réponses au traitement.

PERFORMANCES

1. Limit de détection (LOD)

Les limites de détection (LD), déterminées avec des protéines recombinantes, de la KPC, du NDM, de l'IMP, du VIM et de l'OXA-48 sont respectivement de 0,50 ng/ml ; 0,15 ng/ml ; 0,20 ng/ml ; 0,30 ng/ml et 0,10 ng/ml.

2. Hook effect (effect crochet)

Aucun effet crochet (Hook Effect) n'a été observé avec une concentration allant jusqu'à 1 µg/mL de carbapénémase.

3. Substances interférentes et réactions croisées

Aucune substance interférente ou réaction croisée n'a été observée avec ce kit de test. Aucune réaction croisée avec des bactéries spécifiques n'a été détectée (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Une étude des variants détectés a été réalisée et la liste des variants est présentée dans le tableau suivant.

Carbapenemase type	Variant detected
KPC	KPC-1, KPC-2, KPC-3, KPC-4, KPC-27, KPC-74
NDM	NDM-1, NDM-2, NDM-5, NDM-6, NDM-7, NDM-9, NDM-24
VIM	VIM-1, VIM-2, VIM-4, VIM-5, VIM-9, VIM-10, VIM-19, VIM-53
IMP	IMP-1, IMP-3, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-10, IMP-11, IMP-15, IMP-25, IMP-26, IMP-29, IMP-30, IMP-34, IMP-38, IMP-40, IMP-42
OXA	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-244

4. Répétabilité et reproductibilité

La répétabilité et la reproductibilité du test ont été évaluées en interne avec trois lots différents et un coefficient de variation (CV) inférieur à 10 % a été observé.

5. Performances cliniques

Au total, 212 isolats cliniques ont été collectés dans des hôpitaux européens (81 %) et américains (15 %) en 2019 et 2020, dont 19 isolats à carbapénémase négative (9 %) et 193 (91 %) entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) avec différents types de carbapénémase. Ces isolats ont été prélevés dans diverses sources d'infection, notamment les voies respiratoires, les voies urinaires, les prélèvements intra-abdominaux et les prélèvements de villosités choriales. Tous les isolats ont fait l'objet d'une analyse moléculaire et les résultats discordants ont fait l'objet d'une détermination de la CMI. Les isolats ont été cultivés sur gélose au sang pendant 24 heures à 37°C et analysés à l'aide du test rapide KarbaDia [6].

KarbaDiag vs genetic testing and MIC

KPC	+	-	Sensitivity	100%	(CI95%: 87-100%)
+	32	0	Specificity	100%	(CI95%: 97-100%)
-	0	180	PPV	100%	(CI95%: 87-100%)
			NPV	100%	(CI95%: 97-100%)
OXA	+	-	Sensitivity	98%	(CI95%: 90-100%)
+	58	2	Specificity	99%	(CI95%: 95-100%)
-	1	149	PPV	97%	(CI95%: 87-99%)
			NPV	99%	(CI95%: 96-100%)
NDM	+	-	Sensitivity	97%	(CI95%: 89-99%)
+	65	1	Specificity	99%	(CI95%: 95-100%)
-	2	139	PPV	98%	(CI95%: 91-100%)
			NPV	99%	(CI95%: 94-100%)
IMP	+	-	Sensitivity	93%	(CI95%: 66-100%)
+	14	0	Specificity	100%	(CI95%: 98-100%)
-	1	190	PPV	100%	(CI95%: 73-100%)
			NPV	99%	(CI95%: 97-100%)
VIM	+	-	Sensitivity	100%	(CI95%: 85-100%)
+	29	0	Specificity	100%	(CI95%: 97-100%)
-	0	183	PPV	100%	(CI95%: 85-100%)
			NPV	100%	(CI95%: 97-100%)

Une deuxième étude a été réalisée dans un centre européen à l'aide d'une collection de 250 souches bien caractérisées produisant des carbapénémases et des non-carbapénémases. Les bactéries ont été cultivées pendant 20 heures sur des plaques de gélose Muller Hinton à 37°C avant l'évaluation. La sensibilité globale du test KarbaDia était de 97% (CI95: 93%-98%) et la spécificité de 100% (CI95 : 79%-100%).

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Lisez attentivement le mode d'emploi avant d'utiliser le test.
- Identifier clairement l'échantillon sur les cassettes de test.
- Ce kit est réservé au diagnostic *in vitro* et à un usage professionnel.
- Ne pas réutiliser les test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption
- Lire les résultats du test dans le délai imparti afin d'éviter toute interprétation erronée.
- Ne pas utiliser les composants de différents lots ou différents types de réactifs.
- Éliminer correctement l'échantillon et les réactifs du kit utilisés conformément à la réglementation locale en matière d'élimination des déchets biologiques dangereux.
- Utiliser un équipement de protection lors de l'utilisation du test et de la manipulation des échantillons car ils peuvent contenir des agents infectieux, des composants humains ou animaux.
- L'azoture de sodium est utilisé comme conservateur dans la solution de traitement des échantillons. Éliminer le matériel conformément aux réglementations locales en vigueur et éviter tout contact avec les yeux et la peau.
- Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

RÉFÉRENCES

- Nordmann et al. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerging Infectious Diseases. 2012; 18(9).
- Bush et al. Updated Functional Classification of β -Lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2010; 54(3):969-976.
- Oteo et al. Evolution of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at the global and national level: what should be expected in the future? Enferm. Infect. Microbiol. Clin. 2014; 32 Suppl 4:17-23.
- Nordmann et al. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. Clin. Microbiol. Infect. 2014; 20:821-830.
- Sadek et al. Evaluation of novel immunological rapid test for rapid detection of carbapenemase producers in multidrug-resistant gram negatives, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease (2022)
- Hawser et al. Preliminary evaluation of KarbaDiag, a new rapid test for the detection of carbapenemase in bacterial colonies, ECCMID 2022 Poster, 05084

SYMBOLES

	Fabricant		Date de péremption
	Ne pas réutiliser	LOT	Numéro de lot
	Date de fabrication	EC REP	Représentant européen autorisé
	Consulter le mode d'emploi	IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limite de température	REF	Numéro de référence
	Suffisant pour <n> Test	CE	Marquage CE
	Pas pour test proche du patient		Pas pour auto-test



GaDia SA
Route de l'Île-au-Bois 1A
1870 Monthey (Switzerland)
www.gadia.ch
info@gadia.ch



ER Egészségügyi, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.
Budafoki út 57/b
1111 Budapest (Hungary)
ujszaszi.istvan@erkft.hu